Dott. CLAUDIO GARGANO

LA CINESI NEI SARCOMI A CELLULE POLIMORFE

Estratto dal *Bollettino della Società di Naturalisti in Napoli*
Vol. XXIII (Serie 2ª, vol. III, 1909)

NAPOLI
R. Stabilimento Tipografico Francesco Giannini & Figli
Via Cisterna dell' Olio
1910

LA CINESI NEI SARCOMI A CELLULE POLIMORFE

pel socio Claudio Gargano

(con le tavole II e III)

(Tornata del 29 Agosto 1909)

L'insieme dei fenomeni che si succedono nelle cinesi dei sarcomi a cellule polimorfe è molto complesso e non sempre riferibile ad un determinato ed unico tipo. In questi tumori si hanno varie specie cellulari, che si possono riunire in tre gruppi principali, nell'indeterminato, nell'epitelioide e nel fusato, giacchè gli elementi multinucleati, rotondi, ecc., non sono che risultati della moltiplicazione di tali cellule o forme degenerative di esse.

Il materiale di osservazione, prelevato da numerosi ammalati e da vari organi, è stato fissato nei liquidi di Hermann e Fleming; le sezioni sono state colorate con l'ematossilina ferrica secondo Heidenhain e con la saffranina sciolta in acqua di anilina. Ottime doppie colorazioni dei preparati colorati con la saffranina si sono avute adoperando il verde luce.

Tipo indeterminato.

Le cellule del tipo indeterminato (Fig. 1) sono elementi di grandezza variabile, senza parete, con citoplasma granuloso, a struttura trabecolare, nel quale si trovano disseminati molti granuli ed inclusioni cromatofile, che all'inizio della profase vanno sparendo. Non mi è riuscito di poter notare vicino al nucleo la presenza di centrosomi o di centrosfere o di granuli refrangenti, che avessero le medesime elettività per i colori che si consigliano per l'esame di tale parti cellulari.

Durante la profase la cellula aumenta di volume, diviene sferica ed attorno al nucleo si forma una zona protoplasmatica più lucida e chiara, nella quale non si rinvengono nè inclusioni, nè granuli cromatofili. Il nucleo, durante la fase di riposo è grande, voluminoso, sempre vescicolare, rivestito di una membrana, che in molti punti prende intimi rapporti e si confonde

col reticolo cromatico e con le masse cromatiche che si trovano nel suo interno. All'inizio della cinesi la formazione di un liquido endonucleare respinge talvolta siffattamente la membrana nucleare da renderla sottilissima.

Il nucleo risulta di un reticolo cromatico, che s'intreccia variamente, nelle cui maglie si trovano le masse cromatiche di forma indeterminata, i granuli cromatici ed uno o due nucleoli; questo reticolo con delicati metodi di tinzione, facendo colorare intensamente il preparato con la tintura di ematossilina, e facendolo scolorare sufficientemente con una soluzione acquosa di allume ferrico, mostra la medesima colorazione e morfologia elementare delle masse cromatiche e dei granuli cromatici, non così dei nucleoli. Con l'illuminazione artificiale del preparato e con la luce indiretta, sia il reticolo che le masse cromatiche si vedono risultare di tanti granuli cromatici addossati gli uni agli altri, moniliformi, riuniti da una sostanza acromatica. Il nucleolo o i nucleoli (quando sono in numero maggiore ad uno) hanno reazioni cromatiche un poco dissimili dal reticolo e dalle masse cromatiche, hanno una minore elettività per i colori basici di anilina, per l'ematossilina ferrica e per la saffranina: mostrano nel loro interno parecchi vacuoli più rifrangenti. Sebbene presentino talvolta dei tratti di unione con le masse cromatiche e col reticolo cromatico, ciò non ostante bisogna ritenere che non abbiano nulla di comune con essi in quanto a genesi.

L'interpretazione infatti del modo di comportarsi dei nucleoli nelle cinesi è stata controversa. Rückert ('92) studiando l'oogenesi nei Selaci ritiene che i nucleoli non sieno formati da trasformazioni dei cromosomi telofasici, ma bensì dalla condensazione di sostanza cromatofila plasmatica, e li crede dei nucleoli plasmatici. Carnoy & Lebrun ('98) hanno osservato nei Batraci il modo di risoluzione dei nucleoli in numerose risoluzioni, che alla lor volta si dissolvono in granuli: dall'unione di questi granuli, dalla fusione di essi alla telofase si avrebbe la formazione di nucleoli. Wager ('04) nel *Phaseolus* viene alla conclusione che i cromosomi si fondino in una massa unica, il nucleolo, e che quindi il reticolo extranucleolare, essendo formato a spese della sostanza cromosomica, non può rappresentare che una parte del nucleolo stesso. Anche Merriman ('06) durante la profase nel *Zygnema* vede il nucleolo dissolversi in granuli, i quali fondendosi con gli altri, sparsi nel nucleo, darebbero origine ai cromosomi, che nella telofase si fonderebbero novellamente in un unico nucleolo. Nel medesimo ordine di idee è Berghs ('06) pel *Spi-*

rogyra, giachè egli ha visto nella profase staccarsi dal nucleolo dodici cromosomi a forma di bastoncello, che darebbero origine alla corona equatoriale, ed alla lor volta durante la telofase ha seguito la ricostruzione del nucleolo a spese dei cromosomi veri e di una sostanza cromatofila, che si trova sparsa nella cellula. Invece Mano ('**04**) sia nel *Phaseolus* che nel *Solanum tuberosum* è persuaso che il nucleolo non provenga dai cromosomi, ma che nasca qualche volta in contatto abbastanza intimo con essi, e che in seguito a questo contatto del nucleolo con i filamenti reticolari, qualcheduno di questi ultimi dimorino accollati al nucleolo, conservando in pari tempo la loro unione col reticolo generale della periferia, del quale fanno parte e che si trova spinto contro la membrana dal liquido perinucleolare. E pure Escoyez ('**07**) studiando i medesimi fenomeni nucleari nel *Zygnema* è venuto a conclusioni diverse da Merriman ('**06**), che invece concordano con quanto Mano ('**04**) ha osservato. Ha seguìto pure durante la profase il formarsi nel reticolo cromatico di tratti più spessi e colorati ed anastomizzati fra di loro, che si vanno condensando e regolarizzando per prendere infine la forma di piccoli bastoncelli lisci, completamente isolati gli uni dagli altri, cioè i cromosomi. Durante tale processo il nucleolo non fornisce nessun elemento morfologico ai cromosomi in formazione.

Recentemente io [Gargano ('**08**)] nei sarcomi parvicellulari dicevo che alla profase i nucleoli, le masse cromatiche ed il reticolo cromatico si risolvevano in numerosi pezzi tozzi, i cromosomi, senza che fosse possibile vedere un filo cromatico unico, un gomitolo, che frammentandosi desse origine ai cromosomi stessi. Nei sarcomi a cellule polimorfe, che ritengo già un tipo più differenziato di neoplasmi, è agevole poter seguire il decorso ulteriore del nucleolo, come la genesi dello stesso; quando già il reticolo cromatico e le masse cromatiche avranno dato principio alla formazione dei cromosomi, il nucleolo si risolverà variamente in risoluzioni nucleolari [cromoteni di Cerruti ('**07**)], che alla lor volta si dissolveranno nell'enchilema nucleare. Alla telofase invece dai granuli cromatofili sparsi si ricostruirà il nucleolo, quando già si sarà riorganizzato il reticolo cromatico e le masse cromatiche.

La « *synaptic phase* » quale è stata descritta da Moore ('**95**) negli spermatociti dei Selaci e quale è stata interpretata da Giardina nel *Dytiscus marginalis* ('**01**) e nella *Mantis religiosa* ('**02**)

non trova una facile interpretazione nelle cellule di questi neoplasmi (Fig. 2), tanto più che non potrebbe escludersi un'azione contrattile prodotta dai vari fissativi e dagli alcool, che ha fatto ritenere a CERRUTI ('06) per ciò che riguarda i Selaci, che la spiegazione dello stadio di sinapsi sia oltremodo difficile. Egli pensa che durante i primi stadi di sviluppo degli oociti dei Selaci, i fissatori, e forse, anche più, gli alcool, produrrebbero sensibili alterazioni nel citoplasma e nei nuclei, tanto che il carioplasma interposto fra i filamenti cromatici, nella gran maggioranza dei preparati, non resterebbe conservato che sotto forma di rare trabecole.

Or se quindi le alterazioni del carioplasma potrebbero produrre, durante le numerose manipolazioni fatte, per ottenere dei preparati stabili, dei ravvicinamenti e degli allontanamenti dei fili cromatici, sarebbero naturalmente alterate le relazioni che esistono fra i fili cromatici negli oociti viventi: tuttavia è di opinione che sia più accettabile l'ipotesi dell'accollamento dei filamenti cromatici, anche tenuto conto di quanto si osserva in altri animali, nei quali questi fenomeni sono più facili a seguirsi.

Nei sarcomi, trattandosi di tessuti compatti, è più difficile ammettere delle alterazioni e contrazioni, tanto più che il numero dei nuclei in sinapsi è considerevole; il fenomeno deve essere, se non costante all'inizio della profase, almeno abbastanza comune.

Per BASHFORD & MURRAY ('06) lo stadio di sinapsi nei tumori maligni (cancro) precederebbe sempre le mitosi dei loro elementi, che si comporterebbero come quelle delle cellule sessuali degli animali: il filamento cromatico sarebbe diviso longitudinalmente e raccolto a rosetta in una parte del nucleo, nel mentre che il nucleolo verrebbe spinto contro un punto della membrana nucleare. E LABBÈ ('04) avendo riscontrato nella spermatogenesi del Gambero uno stadio di sinapsi, in cui i cromosomi si uniscono a due e fondono la loro cromatina in una vescicola unica o protetrade, dalla quale per condensazione ulteriore della cromatina si organizzerebbero le tetradi, deduce una differenza qualitativa fra i cromosomi coniugati. Io [GARGANO ('08)] nei sarcomi parvicellulari ponevo la quistione se la sinapsi rappresentasse un inizio della cariocinesi o una divisione differenziale della cromatina (a similitudine di quanto avviene per l'oogenesi del *Dytiscus marginalis*), ovvero fosse un modo qualsiasi di distribuzione della sostanza cromatica, pur propendendo di più per l'ipotesi che sia l'inizio della mitosi. Nei sarcomi polimorfi la spiegazione

del fenomeno sinapsi non è certamente più agevole. Ho pertanto potuto constatare quanto scrive Cerruti ('06), che in questa fase la sostanza cromatica dei nuclei presenta un massimo di elettività per i colori basici, una spiccata basofilia, come quella posseduta dai cromosomi durante le mitosi.

Allo stadio di sinapsi si deve ritenere che ne segua un altro (Fig. 3) nel quale si trovano novellamente diradate nel nucleo le masse cromatiche, le maglie del reticolo cromatico ed i nucleoli, però i filamenti di questo reticolo sono più spessi, più tozzi e più ravvicinati con le masse cromatiche. L'attività cinetica quindi si manifesta col rendersi più chiaro il citoplasma cellulare, che attorno al nucleo si differenzia come una zona lucida senza inclusioni cromatofile: a luce riflessa tale protoplasma mostra un aspetto omogeneo ed una struttura finamente trabecolare. Nel nucleo la membrana nucleare diviene più sottile, meno tingibile con la saffranina e con l'ematossilina ferrica; il reticolo cromatico si ispessisce e si colora più intensamente in alcuni tratti, le masse cromatiche mandano molte risoluzioni, che si fondono con i tratti più colorati del reticolo; i granuli cromatici si disperdono nel nucleo ed il carioplasma si colora leggermente in rosa con la saffranina. I tratti del reticolo più spessi e più intensamente tinti dai colori cromatici (Figg. 4, 5 e 6) vanno perdendo le anastomosi che avevano fra di loro, ne acquistano delle nuove con le risoluzioni delle masse cromatiche e finiscono per individualizzarsi in cromosomi di forma poco definita. Non si può dire se vi sia uno stadio di gomitolo unico, che frammentandosi originasse i cromosomi; questi evidentemente nascono dal raddensamento del reticolo cromatico e dalle risoluzioni delle masse cromatiche.

Il nucleolo o i nucleoli non danno mai risoluzioni in questo stadio; in uno stadio che precede immediatamente la metafase il nucleolo (Figg. 5 e 6) si risolve anche esso in numerose risoluzioni di forma diversa, diritte, a volute, non è raro vederne delle complicate, però le risoluzioni nucleolari sono più sottili e meno colorabili delle risoluzioni delle masse cromatiche e delle evoluzioni del reticolo cromatico; esse finiscono per disorganizzarsi e dissolversi nel carioplasma. Molte volte vi è difficoltà a distinguere i cromosomi dalle risoluzioni nucleolari, giacchè queste, a differenza dei nucleoli, presentano la medesima spiccata basofilia dei cromosomi: si possono distinguere invece principalmente per il modo come si formano le anse di risoluzione, che sono

sempre più complicate, più sottili e più apparentemente granulari dei cromosomi. I rapporti fra cromosomi e nucleoli, credo, debbano essere su per giù identici a quelli che descrive Mano ('04) ed Escoyez ('07): il nucleolo fornirebbe della sostanza ai cromosomi senza entrare direttamente nella loro formazione. Che ciò avvenga per mezzo delle « *suspending fibres* » di Wager ('04) o per mezzo di una diffusione di sostanza cromatica nell'enchilema nucleare, secondo Mano ('04), non è possibile assodare, date la relativa piccolezza degli elementi e le reazioni cromatiche non sempre chiare e definite. Carnoy & Lebrun ('98) invece suppongono, per quanto riguarda l'oogenesi dei Batraci, che il nucleolo, fornisse una parte di sostanza destinata ad originare i cromosomi, ed un'altra il cui destino fosse di diffondersi nel protoplasma per concorrere alla formazione del vitello.

D'altronde nella ricostruzione del reticolo cromatico alla telofase si osserva precisamente l' inverso, che pure senza la presenza di un gomitolo continuo i cromosomi prendono anastomosi fra di loro, si intrecciano variamente e si risolvono in un reticolo cromatico nucleare ed ammassandosi originano le masse cromatiche di forma indeterminata, che si rinvengono nello stadio di nucleo a riposo ed all'inizio della profase. In tale periodo telofasico il nucleolo non si è ancora formato, esso nascerà da tutta quella sostanza cromatofila e residuale che si trova sparsa nel carioplasma. Col disorganizzarsi delle risoluzioni nucleari e del nucleolo si ha anche la disorganizzazione completa della membrana nucleare ed i cromosomi si trovano sparsi in quel tale citoplasma perinucleare più chiaro, che si è andato differenziando durante la profase, dopo il periodo di sinapsi.

I cromosomi profasici (Fig. 6) sono di forma poco definita, appariscono come masse cromatiche allungate, come blocchi di cromatina, come bastoncelli; il loro numero è variabile e non è suscettibile di conteggio, anche ricorrendo ad artifici di tecnica. Nei sarcomi non è possibile, allo stato attuale dei fatti, dare una spiegazione dell'eterotipicità dei cromosomi. Tale eterotipicità non è per nulla ammessa da Bashford & Murray ('06) e da von Hansemann ('04). Bashford & Murray ('06) infatti nei tumori maligni (cancro) del pene e della mammella hanno trovato che le mitosi possono essere interpretate come mitosi somatiche con divisione longitudinale dei cromosomi, e credono, che la loro apparenza eterotipica sia dovuta alle variazioni nello sviluppo della figura cromatica, alla forma peculiare dei cromosomi ed al loro modo di attaccamento nella sezione. Le forme

che rappresentano cromosomi bivalenti non sarebbero in realtà difformi dal tipo incontrato nelle ordinarie divisioni cariocinetiche (somatiche). Von Hansemann ('04 combatte la presenza di mitosi eterotipiche nei tumori maligni e ritiene che le apparenti figure eterotipiche sieno dovute alla riunione dei cromosomi ed alla patologica anormalità della loro forma; la diminuzione numerica non è conseguenza della divisione del numero normale, ma è irregolare e dovuta a mitosi asimmetriche o a consecutiva degenerazione dei cromosomi. Berghs ('05) infine spiega l'eterotipicità dei cromosomi con l'ammettere che i filamenti, sottili da principio, si accollino due a due, dando così origine allo spirema spesso, e che riappariscono più tardi allorchè avviene la sedicente divisione longitudinale di questo spirema. Ciò essendo sembra evidente che ciascuno di questi filamenti sottili da principio rappresenti un cromosoma somatico completo e che per conseguenza la cinesi eterotipica, separando le metà longitudinali dei tronchi spirematici, separerebbe in realtà dei cromosomi somatici completi. Laddove Strasburger ('04) crede che la formazione dei cromosomi eterotipici non consisterebbe nella coniugazione di due a due dei cromosomi o dei filamenti cromosomici somatici, ma piuttosto risulterebbe dalla riunione due per due dei differenti gruppi di granuli cromatici.

L'apparizione e l' organizzazione del fuso (Figg. 7 e 8) è preceduta dal rendersi chiaro ed omogeneo tutto il citoplasma cellulare, dall' ingrandimento considerevole della cellula e dalla disorganizzazione completa di tutte le inclusioni cromatofile. Trasformata la cellula in un elemento quasi sferico, non si può stabilire quale sarà l'orientazione del fuso, tanto più che non sono visibili centrosomi : la confluenza dei fili lininici individualizza, è vero, due punti più brillanti e più rifrangenti, ma non è possibile di interpretarli per centrosomi, perchè questi punti non assumono nessuno dei colori cromatici, che si sono consigliati per mettere in evidenza tali parti cellulari. Il citoplasma si raddensa ai due poli della cellula e contribuisce anche esso alla formazione del fuso: i fili non sono sempre chiaramente visibili, nè il fuso apparisce ugualmente differenziato ; lo vediamo qualche volta allargato agli estremi, quasi tozzo, altre volte molto allungato, nè la sua posizione in tutti gli elementi è secondo l'asse maggiore cellulare.

I cromosomi che prima si trovavano sparpagliati senza un ordine definito nello spazio di citoplasma più chiaro originatosi

attorno all'antico nucleo, ora si dispongono all'equatore del fuso come corona equatoriale. Sono tanto ammassati che non è possibile distinguere la loro autonomia, sembrano dei pezzi cromatici, nei quali con la diversa rifrazione della luce si riesce a mettere in evidenza dei punti più chiari e dei punti più scuri: i punti più chiari corrispondono al sito fra cromosoma e cromosoma. In questo stadio avviene la scissione longitudinale dei cromosomi. È un fatto che si intuisce più che si osserva, appunto per la forma poco definita dei cromosomi e per l' impossibilità della loro numerazione.

Von Hansemann (**'93**) ritiene che nel cancro umano allo stadio di piastra equatoriale il numero degli elementi racchiudenti la cromatina sia soggetto a diminuzione. Bashford & Murray (**'06**) avendo potuto osservare nella piastra equatoriale delle mitosi del cancro la presenza di parecchi cromosomi brevi divisi longitudinalmente, vengono alla conclusione doversi interpretare queste mitosi come somatiche e non come eterotipiche. Durante questo stadio i medesimi aa. nel cancro hanno osservato frequentemente che i bastoncelli o i V cromosomici, divisi ad uncino, sono inegualmente lunghi: il che quando si verifica, l'attrazione delle fibre è limitata relativamente ad un piccolo numero ed interessa solo l'estremità del V o un suo punto prossimo, e quindi più un cromosoma che un altro. Quando un cromosoma ha la forma di un bastoncello lungo non potrà venire alla posizione di equilibrio nel piano equatoriale, ma dovrà prendere una inclinazione verso l'asse della figura acromatica; quando i cromosomi sono attaccati in questa maniera alla fibre di attrazione, l'estremità più lunga di essi può venire a disporsi parallelamente alla sezione dell'asse e di qui si ha che la divisione nucleare rassomiglierebbe alle mitosi eterotipiche, potendosi avere anche l'apparenza di cromosomi bivalenti.

Nei sarcomi polimorfi quello che si può notare è questo, che vi sono delle cellule durante la metafase in cui i cromosomi della piastra equatoriale non si sono ancora divisi (Figg. 7 e 8), mentre vi sono altre cellule (Figg. 9 e 10), che hanno dovuto subire tale processo di scissione, perchè il loro numero è certamente maggiore. La cellula in questo stadio di evoluzione si allunga ed il protoplasma si rende più granuloso ai poli del fuso. Non vi è nessuna analogia con quanto ha notato Escoyez (**'07**) nel *Zygnema*, giacchè egli osserva i cromosomi molto nettamente divisi longitudinalmente, il che risulta dal fatto che il numero dei bastoncelli doppi constatati in quel momento corrisponde,

sia per le visioni dirette che per le oblique, al numero dei bastoncelli semplici constatati anteriormente. Durante la metafase i cromosomi profasici certamente si sdoppiano, avendosi due corone di cromosomi, che ascenderanno verso i poli, per preludere allo stadio di « *tassement polaire* » quale è stato descritto da GREGOIRE ('05).

BASHFORD & MURRAY ('06) pensano che durante la separazione dei cromosomi figli, nel cancro, tali divisioni nucleari traggono maggiormente in inganno, perchè i bastoncelli cromosomici lunghi restano per qualche tempo ancora aderenti dopo la separazione delle estremità; la sostanza acromatica potrebbe anche distribuirsi egualmente nei nuclei figli per il fatto che il centrosoma può restare unico o, se diviso, uno solo dei due nuovi centrosomi prenderebbe aderenza con i cromosomi per mezzo delle fibre di attrazione. I cromosomi quindi, secondo gli aa., rimarrebbero in un sol gruppo, mentre gli elementi figli, separati leggermente, formerebbero un largo nucleo: tali mitosi, invece di ridurre il numero dei cromosomi alla metà, lo manterrebbero inalterato, essendosi tale numero raddoppiato, per il fatto che non si avrebbe la separazione della metà dei cromosomi.

Nello stadio di metacinesi dei sarcomi polimorfi non è difficile avere forme che possono presentare l'aspetto di tetradi, tetradi alle quali, secondo la maggioranza dei citologi, si attribuirebbe grande importanza per la spiegazione della riduzione cromatica delle cellule genetiche, e che invece, raramente, se non eccezionalmente si verificherebbe nelle cellule somatiche. Or quindi, ciò ammesso, o non bisognerebbe ritenere una reale differenza fra cellule somatiche e cellule genetiche o col BEARD ('03) si dovrebbe ammettere che le cellule genetiche embriologicamente possano trovarsi diffuse in tutto il corpo indifferentemente e che solo in seguito nel periodo post-embrionale si stabiliscano e prolifichino nel testicolo e nell'ovario. FARMER, MOORE & WALKER ('06) descrivono anche essi forme di tetradi nelle mitosi dei tumori maligni (cancro), che sono molto analoghe alle mitosi delle cellule riproduttive del testicolo e a quelle maiotiche. L'accrescimento rigoglioso della massa del tumore sarebbe intimamente legato, almeno in parte, alla trasformazione nelle funzioni delle cellule somatiche affette, il che sarebbe del tutto contrario all'ipotesi della persistenza dei « germi embrionali » di COHNHEIM. Il tessuto affetto si accrescerebbe altresì per un cambiamento nella natura e nelle funzioni delle cellule somatiche e per un rapido risveglio dell'attività mitotica. DELLA VALLE ('07) invece

è di opinione che le tetradi non sieno che la manifestazione di una difettosa ed insufficiente organizzazione dei cromosomi, di una debolezza loro congenita, probabilmente più in alcuni punti che in altri, causata forse da parecchi assettamenti degli elementi che li costituiscono, come per i piani di clivaggio in una massa amorfa che si sia andata cristallizzando nell'interno, rendendo più facile la separazione delle parti, qualora una forza agisca tendendo a separarle. Non credo che nei sarcomi si debba attribuire alle tetradi un valore speciale, ritenendole delle pure accidentalità, pur non dando calcolo al fatto, che possano essere l'interpretazione di illusioni ottiche di cromosomi curvi, che mostrano verso l'osservatore le loro estremità.

Consecutivamente alla scissione longitudinale dei cromosomi, nell'ascensione delle due piastre degli anzidetti cromosomi metafasici verso i poli del fuso (Fig. 12) nei sarcomi polimorfi, avvengono due ordini di fenomeni, alcuni inerenti ai cromosomi, altri al protoplasma. I cromosomi perdono sempre più la loro individualità, la loro autonomia, si riuniscono per le estremità, fondono in parte la loro sostanza cromatica, ma non si può dire se originano un gomitolo continuo (Figg. 13 e 14); in alcuni punti si vanno condensando in masse cromatiche indeterminate, che saranno le future masse cromatiche della profase. Non si ha uno stadio nel quale i cromosomi tornano ad avere la loro autonomia, per il depositarsi di enchilema nucleare attorno ad essi; pare più attendibile il pensare che ogni cromosoma si risolva in un reticolo nucleare elementare, e che fondendosi tali reticoli si abbia la formazione del reticolo nucleare profasico. Nella formazione di questo reticolo nucleare (Fig. 15) si ha un raddensamento di cromatina in masse cromatiche, che non si devono considerare in altro modo che come punti più spessi del reticolo stesso, giacchè esse nel maggior numero dei casi continuano ad avere intimi rapporti col reticolo; in qualche caso invero perdono tali intimi contatti e restano come masse libere, nelle quali non tardano ad apparire vacuoli più chiari e rifrangenti.

Berghs ('06) ha notato nel *Spirogyra*, che il « *tassement polaire* » dei cromosomi si opera ad una certa distanza dall'estremità del fuso, e che l'ammasso cromosomico è circondato da ogni parte dal protoplasma fusoriale, che si avanza verso di esso e nelle branche sporgenti dei cromosomi, branche che subito si ritirano verso la parte centrale, che assume forma rotonda.

I fili del fuso si rendono sempre più sbiaditi, si frammentano verso il centro e si disorganizzano nel mentre che il citoplasma cellulare si va raddensando intorno a questo nucleo di nuova formazione (Fig. 16), che non tarda a circondarsi di una membrana nucleare.

Circa la genesi del nucleolo, Wager ('**04**) ha visto che i cromosomi telofasici si fonderebbero in una massa a spese della quale si differenzierebbe il reticolo ed il nucleolo. Mano ('**04**) invece ha osservato che dopo lo stadio di « *tassement polaire* » i bastoncelli cromosomici si distendono e si distaccano gli uni dagli altri ed è allora che, negli spazi intercromosomici, avviene il primo inizio del nucleolo, che ha origine dal deposito di un certo numero di piccole goccioline dapprima incolori, e che poi si colorano gradatamente. Subito tale nucleolo si circonda di un vacuolo perinucleolare, che lo rende indipendente dal reticolo cromatico, che a sua volta si forma a spese dei cromosomi. Nei sarcomi il nucleolo o i nucleoli appariranno all'inizio del periodo telofasico: si formano anche essi (Figg. 15 e 16) a spese non dei cromosomi, ma di sostanza cromatofila, che si trova sparsa nell'enchilema dei due nuovi nuclei, e qualche volta prendono delle connessioni apparenti con il reticolo cromatico e con le masse cromatiche, in modo che ad un esame superficiale si potrebbe ritenere che morfologicamente avessero origine dalla fusione di più cromosomi.

Il citoplasma si raddensa sempre più intorno ai nuclei di nuova formazione, si strozza ed origina due cellule (Fig. 17): non tardano ad apparire novellamente le inclusioni cromatofile e a rendersi evidente il reticolo protoplasmatico. Non sempre si ha la scissione del citoplasma; l'attività cinetica si arresta al solo nucleo; si hanno in tal modo cellule con due nuclei. Anche per Farmer, Moore & Walker ('**06**) le cellule multinucleate (sincizi) si originano dalle mitosi e dalle amitosi, senza che si avveri anche la divisione della massa protoplasmatica: i medesimi aa. ritengono che i nuclei risultanti possono dividersi o per scissione diretta o per mitosi, le figure nucleari presenterebbero ogni specie di variazione nel numero dei cromosomi, come nel tipo ordinario somatico.

Quale sarà il destino di questi elementi? È duplice: o vivono per un certo tempo e poi degenerano per una delle tante forme degenerative, che può colpire la cellula neoplastica, ovvero i due nuclei che si sono formati dalla divisione cinetica, per un processo amitotico, possono dare origine ad un numero maggiore

di nucleoli; si avranno cellule polinucleate, che alla lor volta o degenerano, ovvero, se il citoplasma si andrà condensando, individualizzando, intorno a ciascun nucleo, si potrà avere la scissione della cellula madre polinucleata in un numero di cellule corrispondenti al numero dei nuclei. È un processo che chiamerei di conitomia, di moltiplicazione abbreviata, che clinicamente si dovrebbe interpretare come esponente di maggiore malignità del tumore.

Tipo epitelioide.

Gli elementi del tipo epitelioide sono più o meno poliedrici, hanno citoplasma leggermente granuloso, struttura trabecolare e nessuna o poche inclusioni protoplasmatiche. Il nucleo è anche esso grande, vescicolare, con una sottile membrana involgente e con un reticolo cromatico di filamenti sottili, che si intrecciano variamente [nuclei leptoteni di Winiwarter ('00)]. Nella trama di questo reticolo si trovano sparsi pochi granuli cromatici; mai si ha la presenza di masse cromatiche indeterminate o di nucleoli. La sostanza acromatica del nucleo mostra un intreccio di fili sottilissimi, che per metterli in evidenza bisogna ricorrere ad artifizi di tecnica. Il destino di questi nuclei è duplice: in rari casi si riscontrano figure cinetiche, per lo più si osservano forme amitotiche, che portano alla scissione cellulare o alla produzione di cellule polinucleate, le quali, alla lor volta, nel maggior numero dei casi, degenerano.

Tipo fusato.

Sono elementi fusati, con contorno definito, con protoplasma granuloso, con poche o nessuna inclusione cellulare cromatofila: hanno nucleo vescicolare con reticolo cromatico appariscente e con uno o due nucleoli. Mai si rinvengono in essi forme mitotiche o amitotiche: sembrano piuttosto cellule di trasformazione dei tipi precedenti.

Conclusioni generali.

I. Gli elementi costituenti i sarcomi polimorfi sono di tre tipi, l'indeterminato, l'epitelioide ed il fusato. Le cellule rotonde, multinucleate, ecc. non sono che risultato della moltiplicazione delle cellule dei tipi su descritti o forme degenerative di esse.

Tipo indeterminato.

II. È costante all'inizio della cinesi l'accrescimento della massa cellulare e la perdita delle inclusioni protoplasmatiche cromatofile, nel mentre che si va formando una zona perinucleare più chiara.

III. Frequentemente si osserva nel nucleo una fase di sinapsi, che si deve considerare come inizio della mitosi, più che come differenziamento della cromatina.

IV. Il reticolo cromatico, le masse cromatiche e i granuli cromatici alla profase si individualizzano in cromosomi, nel mentre che la membrana nucleare si riassorbe.

V. Il nucleolo si risolve anche esso in risoluzioni, nucleolari, che si disorganizzano e si riassorbono nell'enchilema nucleare. Il nucleolo non fornisce quindi morfologicamente elementi per la formazione dei cromosomi.

VI. Non è possibile distinguere la presenza di centrosomi o di centrosfere. L'orientazione del fuso acromatico è arbitraria.

VII. I cromosomi durante la metafase, per il loro ravvicinamento, non sono suscettibili di numerazione.

VIII. La scissione longitudinale dei cromosomi è un fatto che si intuisce più che si osserva.

IX. Non è estremamente difficile durante la metafase notare forme di cromosomi che possono interpetrarsi come tetradi. Tali tetradi ritengo sieno destituite di ogni valore.

X. Alla telofase i cromosomi, spinti gli uni contro gli altri, pare si risolvano in tanti reticoli cromatici elementari. Dalla riunione di questi reticoli elementari si formerebbe il reticolo cromatico delle cellule figlie.

XI. Le masse cromatiche non sono che il risultato del raddensamento del reticolo cromatico e del distacco delle maglie dello stesso.

XII. Il nucleolo o i nucleoli non hanno origine dalla fusione dei cromosomi o dal raddensamento del reticolo, ma nascono indipendentemente per fusione di sostanza cromatofila che è riapparsa nell'enchilema nucleare.

XIII. Durante la telofase riapparirà anche la membrana nucleare.

XIV. Non è possibile notare la fase di gomitolo madre o di gomitoli figli. Probabilmente i cromosomi conserverebbero sempre la loro autonomia.

XV. Le forme multinucleate (sincizi) sono il risultato della divisione del nucleo, senza l' analoga divisione del citoplasma cellulare.

XVI. Le forme di divisione conitomica delle cellule multinucleate sono esponente di un rigoglioso accrescimento della massa del tumore.

Tipo epitelioide.

XVII. È raro riscontrare figure mitotiche. Sembra che questi elementi si moltiplichino principalmente per scissione diretta.

XVIII. Gli elementi epitelioidi vanno soggetti a rapida degenerazione.

Tipo fusato.

XIX. Non si notano mai figure mitotiche ed amitotiche. Sono elementi che hanno assunto una forma stabile, e che potrebbero interpetrarsi come risultato della trasformazione delle cellule dei tipi precedenti.

Dalla Stazione Zoologica di Napoli, agosto 1909.

BIBLIOGRAFIA CITATA [1])

1903. Beard, J. — The Embryology of Tumours: *Anat. Anz. 23. Bd., p. 486-494.*

1905. Berghs, I. — La formation des Chromosomes hétérotypiques: *La Cellule, Tome 22, p. 41-55, 1 Pl.*

1906. — — Le noyau et la cinèse chez le *Spirogyra*: *ibid., Tome 23, p. 53-86, 2 Pl.*

1906. Bashford, E. F. — Murray, J. A. — On the Occurrence of heterotypical Mitoses in Cancer: *Proc. R. Soc. London, (B) Vol. 77, p. 226-232, T. 5-6.*

1898. Carnoy, I. B. — Lebrun, H. — La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens: *La Cellule, Tome 14, p. 109-200, 4 Pl.*

1906. Cerruti, A. — Sull'evoluzione dell'uovo ovarico nei Selaci: *Atti Accad. Napoli, Vol. 13, N. 3, 88 pag., 7 T.*

1907. Della Valle, P. — Osservazioni di tetradi in cellule somatiche. Contributo alla conoscenza delle Tetradi: *ibid., N. 13, 39 pag. 1 T.*

1907. Escoyez, E. — Le noyau et la caryocinèse chez le *Zygnema*: *La Cellule, Tome 24, p. 353-367, 1 Pl.*

1906. Farmer, B. J. — Moore, J. E. S. — Walker, C. E. — On the Cytology of Malignants Growths: *Proc. R. Soc. London, (B) Vol. 77, p. 336-353, T. 8-12.*

1908. Gargano, C. — Le Cariocinesi nei sarcomi parvicellulari: *Boll. Soc. Nat. Napoli, Vol. 22, p. 71-83, T. 1-2.*

1901. Giardina, A. — Origine dell'oocite e delle cellule nutrici nel *Dytiscus*. Primo contributo allo studio dell'oogenesi: *Intern. Monatschr. Anat. Phys. 18. Bd., p. 1-68, T. 17-23.*

1902 — — Sui primi stadi dell'oogenesi e principalmente sulle fasi di sinapsi: *Anat. Anz. 21. Bd., p. 293-308, 21 fig.*

1905. Grégoire, V. — Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes: *La Cellule, Vol. 22, p. 219-376, 147 fig.*

1893. v. Hansemann, D. — Studien über die Spezifizität, den Altruismus und die Anaplasie der Zellen: *Berlin, Hirschwald, 96 pag., 13 T., 2 fig.*

1904. — — Ueber Kerntheilungsfiguren in bösartigen Geschwülsten: *Biol. Centr. 24. Bd., p. 189-192.*

1904. Labbé, A. — Sur la formation des tétrades et les divisions maturatives dans le testícule du Homard: *C. R. Acad. Sc. Paris, Tome 138, p. 96-99.*

[1]) I lavori preceduti da un * non sono stati da me riscontrati direttamente.

1904. Mano, T. — Nucléole et Chromosomes dans le méristème radiculaire de *Solanum tuberosum* et *Phaseolus vulgaris*: *La Cellule, Tome 22, p. 55-78, 4 Pl.*

* 1906. Merriman, Miss. — Nuclear division in *Zygnema: The Botanical Gazzette, Vol. 41, N. 1.*

1895. Moore, J. E. S. — On the structural changes in the Reproductive Cell during the Spermatogenesis of Elasmobranchs: *Quart. Journ. Micr. Sc. N. S. Vol. 38, p 275-313, T 13-16, 4 fig.*

1892. Rückert, J. — Zur Entwickelungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachíern: *Anat. Anz. 7. Bd., p. 107-158, 6 fig.*

1904. Strasburger, E.—Ueber Reductionsteilung: *Sitz. Ber. der K. Preus. Akad. der Wiss., 18. Bd. p. 587-615.*

* 1904. Wager, — The nucleolus and nuclear division in the Root-apex of *Phaseolus*: *Ann. Bot. Vol. 18.*

1900. Winiwarter, H. — Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire de Mammifères (Lapin et Homme): *Arch. Biol. Tome 17, p. 39-199, Pl. 4-8.*

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

(Tav. II e III)

Tutte le figure si riferiscono alle cellule sarcomatose del tipo indeterminato: esse sono state disegnate all'altezza del tavolino del microscopio con la camera lucida di Abbe-Apáty di Koristka, usando come mezzi ottici l'obiettivo 2 mm. apocr. ap. 1,40 Zeiss e gli oculari compensatori 12 e 18 ed il condensatore apocromatico ad immersione Beck. Successivamente i disegni, per la relativa piccolezza degli elementi, sono stati ingranditi.

Tavola II.

Fig. 1. — Cellula con nucleo a riposo.
» 2. — Profase. Stadio di sinapsi.
» 3, 4, 5, e 6. Evoluzioni del reticolo cromatico e delle masse cromatiche, loro trasformazione in cromosomi. Il nucleolo si incomincia a risolvere in risoluzioni nucleolari.
» 7 e 8. — Metafase. Stadio di piastra equatoriale.
» 9. — Metafase, vista da uno dei poli.

Tavola III.

» 10. — Metafase. Probabile stadio di scissione longitudinale dei cromosomi
» 11. — Metafase atipica. Manca una metà del fuso acromatico.
» 12 e 13. — Anafase. Stadio di « *tassement polaire* ».
» 14 e 15. — Telofase. Ricostruzione del reticolo cromatico e delle masse cromatiche. Nella fig. 15 si ha l'apparizione del nucleolo.
» 16. — Sviluppo ulteriore del reticolo cromatico e del nucleolo. Formazione della membrana nucleare.
» 17. — Cellule figlie individualizzate.
» 18. — Cellula figlia in degenerazione nucleare.

Fig. 1.
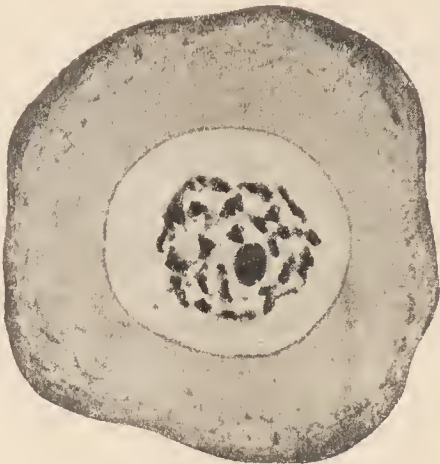
Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

C. Gargano ad nat. del.

Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 13.

Fig. 14.

Fig. 15.

Fig. 16.

Fig. 17.

Fig. 18.

. Gargano ad nat. del.